Synthese von Polypeptiden.
Derivate der Glutaminsäure und α-Aminostearinsäure.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

GENEHMIGT

VON DER PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT
ZU BERLIN.

Von

Walter Kropp
aus Rheydt (Reg.-Bez. Düsseldorf).

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Tag der Promotion: 18. Juli 1908.

Referenten:

Professor Dr. **Fischer.**

Professor Dr. **Nernst.**

Universitäts-Buchdruckerei von Gustav Schade (Otto Francke)
Berlin N. 24, Linienstr. 158.

Dem Andenken meiner Eltern.

Synthese von Polypeptiden.

Derivate der Glutaminsäure.

Theoretischer Teil.

In den Proteinen hat, wie es scheint, die Natur ihre kompliziertesten Stoffe geschaffen und sie für ihre vielfachen Zwecke mit einer Mannigfaltigkeit von Formen ausgerüstet. Daher ist es verständlich, daß die Aufklärung der chemischen Konstitution der Eiweißstoffe erhebliche Schwierigkeiten bereitet, zumal die physikalischen Eigenschaften dieser Körper ihre Untersuchung noch erschweren. Von den vielen Wegen, auf denen die Forschung hier ihr Ziel zu erreichen suchte, führte nur einer zu Erfolgen, nämlich die Hydrolyse, d. h. der Zerfall der Proteine unter Wasseraufnahme durch den Einfluß von Säuren, Alkalien oder Fermenten. Je nach der Stärke und Zeit der Einwirkung kann dieser Prozeß mehr oder weniger vollständig sein und als Spaltprodukte Albumosen, Peptone und Aminosäuren erzeugen, von denen nur die letzten genau bekannt sind. Durch Auf- und Abbau gelang es, bei den meisten von ihnen die Struktur festzustellen und sie als α-Aminoderivate zu charakterisieren. Mit Ausnahme des Glykokolls, das eines asymmetrischen Kohlenstoffatoms entbehrt,

drehen sie die Ebene des polarisierten Lichtes. Leider lassen sich nur einzelne Aminosäuren aus natürlichen Quellen in optisch reiner Form erhalten, da Hydrolyse und Isolierung eine mehr oder weniger große Racemisation bedingen. In den meisten Fällen ist man deshalb auf die Spaltung der synthetischen, inaktiven Produkte in die aktiven Komponenten angewiesen. Die Methode der besten Trennung beruht auf einer fraktionierten Kristallisation von Alkaloidsalzen. Da die Aminosäuren wegen ihres amphoteren Charakters mit den optisch-aktiven Basen direkt keine Salze bilden, die eine Spaltung ermöglichen, so muß hier die Säurenatur erst durch Einführung einer Acylgruppe wie Formyl, Benzoyl, Paranitrobenzoyl etc. verstärkt werden und dann nach der Trennung eine Hydrolyse eintreten.

Die folgende Tabelle zeigt in chronologischer Anordnung die bis jetzt als Bausteine der Proteine gefundenen Aminosäuren mit kurzer Angabe über ihre Entdeckung in der Natur.

Cystin (Wollaston 1810, K. A. H. Mörner 1899)
Leucin (Proust 1818, Braconnot 1820)
Glykokoll (Braconnot 1820)
Asparaginsäure (Plisson 1827)
Tyrosin (Liebig 1846)
Valin (v. Gorup-Besanez 1856)
Serin (Cramer 1865)
Glutaminsäure (Ritthausen 1866)
Ornithin (M. Jaffé 1877)
Phenylalanin (E. Schulze und Barbieri 1881)
Arginin (E. Schulze und E. Steiger 1886)
Alanin (Schützenberger, Weyl 1888)
Lysin (E. Drechsel 1889)
Histidin (A. Kossel 1896)
Prolin (E. Fischer 1901)

Tryptophan (Hopkins und Cole 1901)
Oxyprolin (E. Fischer 1902)
Isoleucin (F. Ehrlich 1903)
Diaminotrioxydodekansäure (E. Fischer und E. Abderhalden, Skraup 1904).

Wenn auch die Eiweißstoffe noch einige bisher unbekannte, einfache Spaltprodukte enthalten, so sind doch sicher die meisten und wichtigsten beobachtet worden. Da jedes Protein zwar nicht alle, aber immerhin eine große Zahl der genannten Aminosäuren bei der totalen Hydrolyse liefert, so bringt deren Erkennung und Abscheidung hier Schwierigkeiten mit sich. In diesem Falle bedeutet die Kristallisation aus wäßriger oder wäßrig-alkoholischer Lösung nur ein unsicheres Verfahren. Deshalb hat E. Fischer eine Methode ausgearbeitet, welche die Trennung durch eine fraktionierte Destillation der Aminosäureester unter stark vermindertem Druck bewirkt, und die qualitativ ausgezeichnete Dienste leistet und selbst für quantitative Zwecke gute Annäherungswerte gibt.

So konnte ein Überblick über die hauptsächlichsten Spaltprodukte der verschiedenen Proteine gewonnen werden, auf dessen Basis später vielleicht einmal eine systematische Einteilung der Eiweißstoffe erfolgt.

Es hat an Betrachtungen über die Art der Verkettung der Aminosäuren in den Proteinen nicht gefehlt. Am meisten verbreitet ist die Ansicht der amidartigen Verknüpfung, welche in den Untersuchungen von E. Fischer und E. Abderhalden[1]) über

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 752 (1906); 39, 2315 (1906); 40, 3544 (1907); vgl. auch die Arbeiten von Levene und Beathy, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 2060 (1906), und Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 143 (1906).

partielle Hydrolyse eine sichere Stütze findet. Den genannten Forschern gelang es, sogenannte Polypeptide, Körper, die eine Säureamidbindung enthalten, zu isolieren, und zwar erhielten sie aus dem Seidenfibroin Kombinationen von Glykokoll mit d-Alanin und mit l-Tyrosin, aus dem Elastin von Glykokoll mit l-Leucin und d-Valin, endlich aus dem Gliadin die l-Leucyl-d-glutaminsäure. Diese Erfolge basieren auf den Erfahrungen, die bei synthetischen Produkten gesammelt wurden, und zeigen, daß E. Fischer, als er ohne Rücksicht auf die einzelnen natürlichen Proteine versuchte, anhydridartige Gebilde durch künstliche Aneinanderfügung von Aminosäuren herzustellen, sich auf dem richtigen Wege befand.

So erscheint die Synthese von Peptiden nach wie vor als ein wichtiges Ziel der Eiweißforschung.

Da der Zusammentritt der Aminosäuren hier in der Weise erfolgt, daß die Carboxylgruppe der einen Säure mit der Amidgruppe der anderen unter Wasseraustritt reagiert, so läßt sich die entstandene Kette immer wieder an beiden Seiten verlängern. Indem E. Fischer[1]) in der Weise 18 Aminosäuren miteinander verknüpfte, erhielt er in dem l-Leucyl-triglycyl-l-leucyl-triglycyl-l-leucyl-octaglycylglycin einen Körper mit dem stattlichen Molekulargewicht 1213, der mit natürlichen Proteinen die größte Ähnlichkeit hat.

Die Zahl und die Art der Bausteine üben einen bestimmten Einfluß auf den Charakter der Peptide aus und bedingen gewisse Reaktionen. Durch die mannigfache Abwechslung der verschiedenen Aminosäuren und die vielen möglichen Isomerien ist der künstliche Aufbau der Natur überlegen, so daß für die Synthese eine Beschränkung notwendig erscheint, die sich nach dem biologischen Interesse richtet.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 1754 (1907).

Von den Aminosäuren findet sich neben dem Leucin die Glutaminsäure am häufigsten in den Proteinen. Mit Ausnahme der Protamine und der Seide konnte sie in allen untersuchten Eiweißkörpern nachgewiesen werden, und zwar meist in erheblicher Menge. Besonders stark ist sie in den Pflanzenproteinen vertreten, so im Gliadin aus Weizen zu 37 Proz.[1]), im Hordein zu 36 Proz.[1]), im Glutenin zu 23,4 Proz.[1]), im Conglutin aus Lupinus luteus zu 20,96 Proz.[1]), im Avenin zu 18,4 Proz.[2]). Aber auch bei vielen Stoffen tierischer Abkunft bildet sie einen beträchtlichen Bestandteil; so enthält die Schafwolle 12,9 Proz.[3]), das Hammelhorn 17,2 Proz.[3]), das Syntonin aus Rindfleisch 13,6 Proz.[4]), das Casein 10 Proz.[5]) Glutaminsäure.

Sie wurde zuerst von Ritthausen[6]) im Jahre 1866 in pflanzlichen Eiweißkörpern, von Hlasiwitz und Habermann[7]) bei der Salzsäurehydrolyse des Caseins entdeckt und von Knieriem[8]), Kutscher[9]) und E. Fischer als ein allgemein verbreitetes Spaltungsprodukt erkannt. Synthetisch entsteht sie durch Reduktion der α-Nitrosoglutarsäure mit Zinn- und Salzsäure[10]). Beim

---

[1]) T. O. Osborne und R. D. Gilbert, American. Journ. of Physiol. 15, 303 (1906).

[2]) Emil Abderhalden und Yuho Hämäläinen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 515 (1907).

[3]) Emil Abderhalden und Arthur Voitinovici, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 348 (1907).

[4]) Emil Abderhalden und Takaoki Sasaki, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 404 (1907).

[5]) Emil Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 151 (1901).

[6]) H. Ritthausen, Journ. f. prakt. Chem. (1) 106, 445 (1869); H. Ritthausen und U. Kreusler, ibid. (2) 3, 314 (1871).

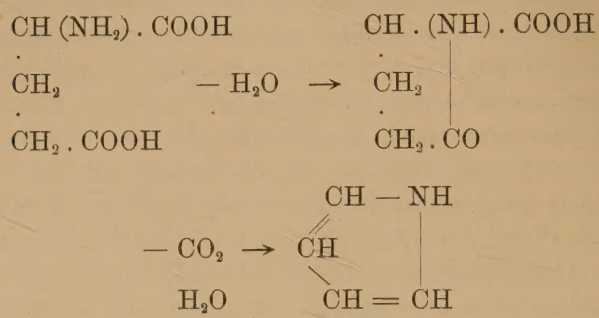
[7]) Liebigs Annalen 169, 150 (1873).

[8]) Zeitschr. f. Biologie 11, 199 (1875).

[9]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 38, 111 (1903).

[10]) Wolff, Liebigs Annalen 260, 119 (1890).

Erhitzen liefert sie zuerst Pyroglutaminsäure und dann unter Kohlensäureabspaltung Pyrrol:



Ein entsprechender Übergang in ein cyklisches System findet bei der Amidierung des Glutaminsäureesters mit flüssigem Ammoniak[1]) statt, indem das Amid der Pyrrolidoncarbonsäure entsteht.

Nach den schönen Untersuchungen von Felix Ehrlich, welche die Entstehung der Nebenprodukte bei der alkoholischen Gärung auf eine Zersetzung des Körpereiweißes der Hefe zurückführen, spielt die Glutaminsäure auch bei diesem Prozeß eine bemerkenswerte Rolle und verwandelt sich dabei in Bernsteinsäure.

In Form eines Amides, des Glutamins, findet sich die Glutaminsäure auch im Runkelrübensaft[2]), in Kürbis-[3]) und Wickenkeimlingen[4]).

Durch Berührung mit dem Pilz Penicillium glaucum entsteht aus dem Racemkörper die linksdrehende, un-

---

[1]) Emil Fischer und Ernst Königs, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 4585 (1904).

[2]) Schulze, ibid. 10, 85 (1877); Schulze und Boßhard, ibid. 16, 312 (1883).

[3]) Schulze und Barbieri, Journ. f. prakt. Chem. (2) 20, 391 (1879).

[4]) Gorup-Besanez, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 10, 780 (1877).

natürliche Komponente[1]). Die Spaltung des inaktiven Produktes in die beiden aktiven Glutaminsäuren bewirkte E. Fischer[2]) mit Hilfe der Benzoylverbindung.

Für die Abscheidung der Glutaminsäure benutzt man gewöhnlich die Schwerlöslichkeit des Hydrochlorates in konzentrierter Salzsäure, da es so leicht gelingt, zu guten Resultaten zu kommen, ohne die optische Aktivität stark herabzusetzen[3]). Zur Isolierung hat man sich auch der Silber- und Zinksalze bedient. Dagegen werden die übrigen schwer löslichen Metallverbindungen, namentlich die Kupfersalze, durch die Gegenwart anderer Substanzen an der Abscheidung gehindert[4]). Die Fällung mit Silbernitrat macht eine Neutralisation notwendig, die sich durch verschiedene Mittel wie Kupferoxyd[5]), Ammoniak und Barythydrat[6]) erreichen läßt. Die Darstellung der Zinkverbindung[6]) ist besonders da angebracht, wo es sich um eine Trennung von der Asparaginsäure handelt, die gleichfalls ein schwer lösliches Silbersalz bildet. In dem Falle kocht man die Lösung der Säuren mit Zinkoxyd im Überschuß, filtriert siedend heiß und engt ein. Dann scheidet sich die sehr schwer lösliche Zinkverbindung (100 ccm Wasser lösen 0,064 g) schon aus der heißen Lösung in Säulen oder Nadeln aus, während die Mutterlauge das leicht lösliche und unkristallinische Asparagylderivat enthält.

Von allen diesen Methoden gibt die zuerst genannte die genauesten Bestimmungen. Allein auch

---

[1]) Schulze und Boßhard, Zeitschr. f. physiol. Chem. 10, 143 (1886).
[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 2451 (1899).
[3]) S. auch S. 18.
[4]) F. Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chem. 38, 111 (1903).
[5]) Hlasiwetz und Habermann, Liebigs Annalen 169, 155 (1873).
[6]) Kutscher, l. c.

die übrigen sind wertvoll, wenn auch nicht für die Abscheidung der Glutaminsäure selbst, so doch vielleicht für die Isolierung ihrer Peptide. Z. B. konnten E. Fischer und E. Abderhalden[1]) die l-Leucyl-d-glutaminsäure aus den Spaltprodukten des Gliadins mit Hilfe der Silberverbindung gewinnen.

Von den Peptiden der Glutaminsäure kennt man bis jetzt nur die Leucylglutaminsäure[2]). Daher erschien es mir wünschenswert, auch andere Körper dieser Klasse darzustellen, und zwar wählte ich Kombinationen von Glykokoll und Glutaminsäure. Denn das Glykokoll gehört nicht allein zu den verbreitetsten Aminosäuren, sondern findet sich auch mehrfach in erheblicher Menge neben der Glutaminsäure. So enthält die Spinnenseide[3]) 35,13 Prozent Glykokoll und 11,7 Prozent Glutaminsäure, das Spongin[4]) 13,9 Prozent Glykokoll und 18,1 Prozent Glutaminsäure.

Die beiden Aminosäuren habe ich zu einem Dipeptid zusammengefügt und auch die Synthese eines Tetrapeptides der gleichen Reihe unternommen, das wegen seines eigenartigen Typus ein besonderes Interesse beansprucht.

Die Glycylglutaminsäure ist eine ausgesprochene Säure; Reaktion und Geschmack entsprechen dem. Da ihr anscheinend wie vielen anderen Glutaminsäurederivaten nur eine geringe Kristallisationsfähigkeit zukommt, stellte ich das schöne, schwer lösliche Kupfersalz dar, welches sich gut für ihre Charakterisierung eignet. Zur Trennung von man-

---

[1]) l. c.

[2]) Emil Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 3711 (1907).

[3]) Emil Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 137 (1907).

[4]) Emil Abderhalden und Eduard Strauß, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 49 (1906).

chen anderen Peptiden wird die Fällbarkeit mit Silberlösung gute Dienste leisten, eine Eigenschaft, die auch das erhaltene Tetrapeptid zeigt. Dieses enthält neben der Glutaminsäure drei Glykokollreste, und zwar bildet ein Glykokoll das Vorderglied, während die beiden andern sich an je eine Carboxylgruppe der Glutaminsäure anschließen. Eine solche Verzweigung der Kette läßt sich nur bei der Glutaminsäure und der weniger wichtigen Asparaginsäure ermöglichen, da diese die einzigen bekannten Dicarbonsäuren sind, welche unter den Spaltprodukten der Proteine auftreten.

Wie fast alle Aminosäuren hat die Glutaminsäure ein asymmetrisches Kohlenstoffatom. Daher sind für sie und ihre Derivate verschiedene stereoisomere Formen möglich.

Um zu Substanzen zu gelangen, die den natürlichen Verhältnissen entsprechen können, bedurfte ich für meine Synthesen als Ausgangsmaterial der optisch-aktiven Glutaminsäure, wie sie durch Spaltung der Eiweißstoffe entsteht. Leider scheint bei dem Aufbau des Tetrapeptides durch die Einwirkung des Phosphorchlorides eine Racemisation einzutreten. Denn während die Chloracetylglutaminsäure noch ein sehr deutliches Rotationsvermögen zeigt, konnte bei den nach der Chlorierung entstehenden Körpern kaum eine Drehung beobachtet werden. Die schlechte Ausbeute bei der Darstellung des Chloracetylglutamyldiglycindiäthylesters legt die Vermutung nahe, daß das eigentlich aktive Produkt infolge geringer Kristallisationsfähigkeit in den Mutterlaugen zurückbleibt[1]).

---

[1]) Zur Klarstellung dieser Verhältnisse erscheint noch eine nähere Untersuchung notwendig.

Für die Synthese von Polypeptiden besteht eine ganze Anzahl von verschiedenen Methoden, deren zweckmäßige Anwendung sich nach dem Charakter der betreffenden Aminosäuren und der Art der zu bildenden Kette richtet.

Das älteste Verfahren, welches in der Aufspaltung von Anhydriden durch Säuren oder Alkalien besteht, führt nur zu Dipeptiden. Es eignet sich am besten zur Bereitung des einfachsten Vertreters dieser Klasse, des Glycylglycins, und gestattet durch die Verwendung gemischter 2,5-Diketopiperazine die Darstellung vieler Variationen. In manchen Fällen wie bei der Synthese des Tyrosyltyrosins und Tyrosylglycins führte allein diese Methode zum Ziele.

Bei weitem das wichtigste Verfahren beruht auf der Einführung halogensubstituierter Acyle. Man kuppelt die Chloride der Halogenfettsäuren in alkalischer Lösung mit Aminosäuren oder Peptiden. Hierbei entstehen Substanzen von der allgemeinen Formel:

$$R . CH . Hal . CO . NH . CH(R_1) COOH,$$

indem das Chlor des Säurechlorides mit der NH_2-Gruppe der Aminosäure resp. des Peptides reagiert unter Austritt von Salzsäure, die durch Alkali abgesättigt wird.

Auf diese Weise erhielt ich die Chloracetylglutaminsäure.

Durch die Einwirkung von Ammoniak findet in solchen Produkten ein Ersatz des Halogens durch die Aminogruppe statt, und man erhält die entsprechenden Peptide.

Die Verlängerung der Kette in der Richtung der Carboxylgruppe gelingt mit Hilfe der Aminosäurechloride, deren Hydrochlorate beim Schütteln

der Aminosäuren mit Phosphorpentachlorid in Acetylchloridlösung entstehen. Wegen ihrer Empfindlichkeit kuppelt man sie in wasserfreien, indifferenten Mitteln wie Äther und Chloroform mit den Aminosäureestern, die gleichzeitig zur Neutralisation der auftretenden Salzsäure dienen. Die entstandenen neuen Esterchlorhydrate liefern dann bei der Verseifung die Peptide. In den meisten Fällen ist es vorteilhafter, an Stelle der Aminosäuren die Halogenfettsäuren oder mehrgliederige Halogenkörper zu verwenden und nachträglich eine Amidierung eintreten zu lassen. Bei den Oxy- und Diaminosäuren hindert die Bildung phosphorhaltiger Nebenprodukte die Reaktion stark. Auch bei der Glutamin- und Asparaginsäure bestehen keine günstigen Erfahrungen. Zwar erhielten E. Fischer und E. Königs[1]) mit Hilfe des Bromsuccinylchlorides ganz glatt die entsprechenden Halogenkörper, aber bei der Amidierung resultierten unter Abspaltung von Bromwasserstoff die ungesättigten Fumarylderivate. Durch längeres Erhitzen mit Ammoniak auf höhere Temperatur fand allerdings die Bildung der inaktiven Peptide unter Ammoniakaddierung statt.

Bei der Glutaminsäure liegen die Verhältnisse noch ungünstiger als bei der Asparaginsäure. Die α-Chlorglutarsäure[2]) ist eine sehr unbeständige Verbindung, die schon in wäßriger Lösung ihr Chlor verliert und daher für die Synthese schlecht verwendbar erscheint. In diesem Falle ließe sich auch die Bildung der gewünschten Peptide kaum durch die Amidierung der ungesättigten Verbindungen erzielen. Denn nach den bisherigen Erfahrungen sollte,

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 4585 (1904).

[2]) Emil Jochem, Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 119 (1903).

wenn eine Anlagerung von Ammoniak stattfindet, bei α, β-ungesättigten Säuren der Eintritt der Aminogruppe am β-Kohlenstoffatom erfolgen.

Ich fand einen Weg zur Bereitung von Glutamylderivaten, indem ich eine Halogenacylglutaminsäure, die Chloracetylglutaminsäure, mit Phosphorpentachlorid und Acetylchlorid in ihr Chlorid verwandelte, dieses mit einem Aminosäureester kuppelte, dann verseifte und amidierte. So erhielt ich das Glycylglutamyldiglycin

$$\begin{array}{rl} & CO\,.\,NH\,.\,CH_2\,.\,COOH \\ & \vdots \\ NH_2\,.\,CH_2\,.\,CONH\,. & CH \\ & \vdots \\ & CH_2 \\ & \vdots \\ & CH_2 \\ & \vdots \\ & CO\,.\,NH\,.\,CH_2\,.\,COOH. \end{array}$$

Eine letzte Darstellungsweise der Peptide basiert auf der Kondensation von Methylestern. In ähnlicher Weise, wie bei der Bildung eines Säureamides Ammoniak auf einen Säureester einwirkt, reagiert die Aminogruppe in einem Molekül des Aminosäureesters mit der Estergruppe eines zweiten Moleküls unter Austritt von Alkohol.

Zum Beispiel läßt sich das Pentaglycylglycin aus dem Diglycylglycinmethylester durch Erhitzen und späteres Verseifen herstellen.

Die genannten Methoden haben sich als äußerst fruchtbar erwiesen, und es gelang, mit ihrer Hilfe die verschiedenartigsten Peptide von fast allen bekannten natürlichen Aminosäuren zu gewinnen.

Experimenteller Teil.

d-Glutaminsäure.

Die für die folgenden Versuche notwendige d-Glutaminsäure wurde durch Salzsäurehydrolyse von Proteinen gewonnen, und zwar aus Casein und Gliadin. Für die Darstellung der Aminosäure benutzte ich die von E. Fischer[1]) angegebene Vorschrift. Bei dem Gliadin beginnt schon sofort beim Erkalten der hydrolysierten Flüssigkeit eine reichliche Ausscheidung des Hydrochlorates, so daß hier die Hauptmasse ohne einzudampfen erhalten werden kann[2]). Zur Reinigung saugte ich das Rohprodukt stark ab und trocknete es, um es möglichst von überschüssiger Salzsäure zu befreien. Dann löste ich es in wenig Wasser auf, kochte 20 Minuten auf dem Drahtnetz mit viel Tierkohle, filtrierte, setzte neue Tierkohle zu, kochte wieder 15—20 Minuten und wiederholte dies so lange, bis das Filtrat vollkommen farblos war. Nach dem Sättigen mit Salzsäuregas bei 0° erhielt ich ein schön weißes, reines Präparat, welches im Vakuum über Schwefelsäure längere Zeit getrocknet wurde. Zur Umwandlung in die freie Säure löste ich das Hydrochlorat in wenig heißem Wasser und fügte die berechnete Menge Natronlauge zu.

Die erhaltene Glutaminsäure war optisch fast rein. Eine Bestimmung ergab folgenden Wert: 0,4100 g Hydrochlorat, gelöst in Wasser. Gesamt-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 151 (1901).

[2]) Emil Abderhalden und F. Samuely, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 276 (1905).

gewicht der Lösung: 4,0702 g; d = 1,04; Drehung im 1 dcm-Rohr bei 20° und Natriumlicht 2,54° nach rechts. Mithin auf freie Glutaminsäure berechnet:

$$[\alpha]_D^{20} = +30{,}26^0 \ (\pm 0{,}2^0).$$

Chloracetyl-d-glutaminsäure.

$$Cl \cdot CH_2 \cdot CO \cdot NH \cdot \underset{\displaystyle CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH}{\overset{\displaystyle |}{CH}} \cdot COOH.$$

5 g d-Glutaminsäure (1 Mol.) werden in 68 ccm (2 Mol.) Normalnatronlauge gelöst. Man kühlt stark und setzt im Laufe einer Stunde unter kräftigem Umschütteln abwechselnd in ganz kleinen Portionen 68 ccm eiskalte Normalnatronlauge (2 Mol.) und 4,6 g (1,2 Mol.) Chloracetylchlorid zu. Nachdem der Säurechloridgeruch verschwunden ist, wird mit 95,2 ccm (2,8 Mol.) Normalsalzsäure angesäuert und im Vakuum (12 mm) vollkommen zur Trockne verdampft. Dann nimmt man 2—3 mal mit je 50 ccm Essigester auf, und zwar wird eben bis zum beginnenden Sieden aufgekocht, kräftig geschüttelt und nach dem Erkalten von den Salzen abfiltriert. Ist der Essigester im Vakuum abgedampft, so bleibt ein fast farbloses, dickflüssiges Öl zurück, welches beim Anreiben mit einigen Tropfen Chloroform allmählich kristallinisch erstarrt. Jetzt fügt man noch Petroläther zu, rührt den Niederschlag damit durch, läßt einige Zeit in einer Kältemischung stehen und filtriert.

Die Ausbeute an Rohprodukt betrug 6,4 g oder 84 Proz. der Theorie.

Zur Reinigung wird in Essigester gelöst, filtriert, auf ein kleines Volumen eingedampft und mit Petroläther gefällt. Dann dekantiert man den Petroläther,

ersetzt ihn durch neuen und verreibt ihn wieder mit dem Niederschlag.

An reinem Produkt wurden 5,6 g (75 Proz. der Theorie) erhalten.

Für die Analyse wurde noch mehrmals umkristallisiert und bei 80° im Vakuum getrocknet.

0,1387 g Substanz gaben 0,1904 g CO_2 und 0,0586 g H_2O.

0,1929 g Substanz gaben bei 15° und 765 mm Druck 10,4 ccm Stickstoff.

0,3281 g Substanz gaben 0,2140 AgCl.

Berechnet für $C_7H_{10}O_5NCl$ (223,56):		Gefunden:
C	37,57 Proz.	37,44 Proz.
H	4,52 -	4,73 -
N	6,27 -	6,33 -
Cl	15,86 -	16,13 -

Die Substanz ist sehr leicht löslich in Wasser, Essigester, Alkohol, Aceton; schwer löslich in Äther und Chloroform, fast unlöslich in Petroläther. Sie wurde in feinen Nadeln, die an den Enden mehr oder weniger zugespitzt sind, erhalten; jedoch scheidet sie sich meist in undeutlich kristallisierten Aggregaten ab.

Im Kapillarrohr erhitzt, schmilzt die Substanz nach vorherigem Sintern bei 143° (korr.) zu einer klaren Flüssigkeit.

Geschmack und Reaktion der Chloracetyl-d-glutaminsäure sind sehr deutlich sauer. Ihre verdünnte wäßrige Lösung wird von Silbernitrat nicht gefällt, fügt man aber vorsichtig Ammoniak zu, so entsteht sofort ein starker Niederschlag des Silbersalzes, der recht hübsch aussieht, aber nicht deutlich kristallinisch ist.

Für die optische Bestimmung wurde die wäßrige Lösung benutzt.

Eine Lösung vom Gesamtgewicht 4,3060 g, die 0,4012 g Substanz enthielt, drehte Natriumlicht bei 21° im 1 dcm-Rohr 1,30° nach links und hatte das spezifische Gewicht 1,034.

Daraus berechnet sich:

$$[\alpha]_D^{21} = -13{,}49^\circ\ (\pm 0{,}2^\circ).$$

Das Präparat wurde noch dreimal in Essigester gelöst, mit Petroläther gefällt und danach bei 80° im Vakuum getrocknet.

Dann drehte eine Lösung vom Gesamtgewicht 4,1156 g, die 0,4078 g Substanz enthielt, Natriumlicht bei 20° im 1 dcm-Rohr 1,38° nach links und hatte das spezifische Gewicht 1,035.

Daraus berechnet sich:

$$[\alpha]_D^{20} = -13{,}46^\circ\ (\pm 0{,}2^\circ).$$

Glycyl-d-glutaminsäure.

$$CH_2 . (NH_2)\,CO . NH . \underset{\displaystyle CH_2 . CH_2 . CO\,OH}{\underset{|}{CH}} . CO\,OH.$$

5 g des Chlorkörpers werden in der fünffachen Menge 25 proz. wäßrigen Ammoniak in der Kälte gelöst und 3—4 Tage bei 25° stehen gelassen. Dann dampft man im Vakuum (12 mm) bis auf etwa 8 bis 10 ccm ein, und zwar unter Zusatz von soviel mehrfach umkristallisiertem Barythydrat, daß sowohl das Chlor als auch die beiden Carboxyle des Dipeptides reichliche Gelegenheit zur Sättigung finden. Schließlich setzt man Wasser zu und dampft wieder ein. Ist alles Ammoniak verschwunden, so entfernt man

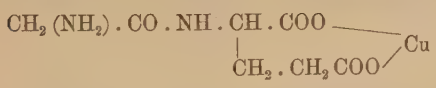
den Baryt mit Schwefelsäure und schüttelt auf der Maschine in schwefelsaurer Lösung mit Silbersulfat. Das überschüssige Silber wird durch Salzsäure niedergeschlagen und die Schwefelsäure genau mit Baryt gefällt. Nachdem die Flüssigkeit im Vakuum eingedampft ist, bleibt ein farbloses Öl zurück, welches beim Anreiben mit absolutem Alkohol erhärtet und eine flockige Beschaffenheit annimmt. Da die noch feuchte Glycylglutaminsäure an der Luft leicht zerfließt, ist bei der Filtration der Niederschlag immer mit Alkohol zu bedecken.

Getrocknet wurde im Vakuum über Phosphorpentoxyd. Die Ausbeute betrug 3,1 g, also 68 Proz. der Theorie.

Zur Reinigung wurde in sehr wenig Wasser gelöst und mit absolutem Alkohol gefällt.

Geschmack und Reaktion des Peptides sind deutlich sauer. Die wäßrige Lösung gibt mit Silbernitrat nach vorsichtigem Zusatz von Ammoniak eine starke Fällung des Silbersalzes. Das Peptid wurde nur amorph erhalten. Es sintert von ca. 165° an zusammen und schmilzt bei 178° (korr.).

Kupfersalz der Glycyl-d-glutaminsäure.



1,1 g Glycylglutaminsäure werden wie üblich durch Kochen mit überschüssigem, gefällten Kupferoxyd in das Kupfersalz verwandelt. Die tiefblaue Lösung dampft man im Vakuum bis auf ca. 50 ccm ein und filtriert nach 24stündigem Stehen.

Die ausgeschiedene Menge betrug 1,3 g.

Sie wurde mit Alkohol und Äther gewaschen. Nachdem die Mutterlauge noch bis auf etwa 10 ccm eingedampft war, wurden noch 0,15 g gewonnen. Ausbeute mithin 80 Proz. der Theorie.

Zur Reinigung wurde in viel heißem Wasser gelöst und wieder im Vakuum eingeengt.

Das Kupfersalz stellt ein hellblaues Pulver dar, welches unter dem Mikroskop keine deutlichen Kristallformen erkennen läßt.

In Wasser ist es schwer löslich, in Alkohol unlöslich.

Die lufttrockene Substanz enthält viel Wasser. Bei 115°—120° (Innentemperatur des Trockenapparates) im Vakuum entsprach der Gewichtsverlust $3^1/_2$ Molekülen Wasser.

Das wasserfreie Salz ist hygroskopisch.

0,2178 g Substanz gaben 0,0418 g H_2O.

0,2439 g Substanz gaben 0,0469 g H_2O.

Berechnet für $C_7H_{10}O_5N_2Cu + 3^1/_2H_2O$ (328,79):	Gefunden:
H_2O 19,18 Proz.	19,19 Proz.
—	19,23 -

Analyse des trockenen Salzes:

0,1760 g Substanz gaben 0,2037 g CO_2 und 0,0593 g H_2O.

0,1492 g Substanz gaben 13,4 ccm N bei 17° und 758,5 mm Druck.

0,2840 g Substanz gaben 0,0844 g CuO.

0,1473 g Substanz gaben 0,0442 g CuO.

Berechnet für $C_7H_{10}O_5N_2Cu$ (265,72):		Gefunden:
C	31,61 Proz.	31,57 Proz.
H	3,80 -	3,77 -
N	10,54 -	10,35 -
Cu	23,94 -	23,75 -
Cu	—	23,98 -

Im Kapillarrohr rasch erhitzt, zersetzt sich die Substanz gegen 213° (korr.).

Durch Zersetzung des Kupfersalzes mit Schwefelwasserstoff wird die oben beschriebene Glycylglutaminsäure zurückerhalten.

Chloracetyl-glutamyl-diglycin-diäthylester.

$$\begin{array}{l} CH_2 . (Cl) . CO . NH . CH . CO . NH . CH_2 . COOC_2H_5 \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad CH_2 . CH_2 . CO . NH . CH_2 . COOC_2H_5. \end{array}$$

10 g der sorgfältig getrockneten Chloracetylglutaminsäure werden in einem Achatmörser schnell ganz fein zerrieben und in zwei Portionen chloriert. Man übergießt je 5 g mit 50 ccm frisch destilliertem Acetylchlorid und schüttelt bei Eiskühlung mit 10,5 g ($2^1/_4$ Mol.) gepulvertem Phosphorpentachlorid. Dabei tritt allmählich vollständige Lösung ein. Alsdann dampft man das Acetylchlorid bei 0° im Vakuum (0,3—0,5 mm) ab und setzt schließlich die Destillation bei gewöhnlicher Temperatur so lange fort, bis auch der größte Teil des Phosphoroxydchlorides entfernt ist. Es bleibt ein gefärbtes, dickflüssiges Öl zurück, welches alle Eigenschaften eines Säurechlorides aufweist. Nachdem man es dreimal mit über Phosphorpentoxyd getrocknetem Petroläther gewaschen hat, löst man es in ca. 50 ccm trockenem Äther. Die ätherische Lösung des Chlorides gibt man aus einem

Tropftrichter langsam zu einer Lösung von 11,5 g (5 Mol.) Glykokollester in 50 ccm trockenem Äther. Der Glykokollester wird vorher auf der Schüttelmaschine mit Baryumoxyd getrocknet und dann frisch destilliert. Bei der Kupplung kühlt man durch eine Kältemischung und schüttelt beständig. Am Schluß der Operation darf keine saure Reaktion vorhanden sein. Glykokollesterchlorhydrat und das Kondensationsprodukt fallen aus der Lösung aus. Der Äther wird dekantiert und durch neuen ersetzt, um überschüssigen Glykokollester zu entfernen. Man wiederholt dies, bis die alkalische Reaktion verschwunden ist. Später prüft man jedoch die eingedampfte ätherische Lösung nochmals auf Gehalt an Kondensationsprodukt. Den bei der Kupplung ausgefallenen Niederschlag digeriert man mit Chloroform, filtriert von dem ungelösten Glykokollester-chlorhydrat ab, wäscht mit Chloroform und dampft die Lösung im Vakuum (12 mm) ein. Der Rückstand wird in ca. 30 ccm Essigester aufgenommen und über Nacht stehen gelassen. Schon beim Anreiben setzt sich ein Niederschlag ab. Man filtriert, wäscht zunächst mit etwas Äther und dann, um noch etwa beigemengtes Chlorhydrat zu entfernen, mit wenig eiskaltem Wasser. So läßt sich schon ein recht schönes Produkt gewinnen.

Zur völligen Reinigung wurde aus absolutem Alkohol umkristallisiert.

Die Ausbeute betrug für je 5 g angewendete Chloracetylglutaminsäure 1,6 g Reinprodukt gleich 18 Proz. der Theorie[1]).

[1]) Aus der Mutterlauge wurde noch eine Substanz gewonnen, die in Geschmack, Löslichkeit und Kristallform mit dem beschriebenen Ester viel Ähnlichkeit aufweist; sie hat jedoch einen höheren Schmelzpunkt. Ihre Abtrennung aus dem öligen Rückstand bereitet Schwierigkeiten, und die Menge war für eine genauere Untersuchung zu gering.

Der Geschmack der Substanz ist bitter.

Für die Analyse wurde aus Alkohol umkristallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0,1663 g Substanz gaben 0,2787 g CO_2 und 0,0938 g H_2O.

0,1477 g Substanz gaben 13,5 ccm N bei 18° und 765 mm Druck.

0,2209 g Substanz gaben 0,0822 g AgCl.

Berechnet für $C_{15}H_{24}O_7N_3Cl$ (393,72):		Gefunden:
C	45,72 Proz.	45,71 Proz.
H	6,16 -	6,31 -
N	10,68 -	10,58 -
Cl	9,00 -	9,20 -

Die Substanz ist leicht löslich in Chloroform, in heißem Xylol und Alkohol (ca. 5 Teilen), schwerer in heißem Essigester und heißem Wasser, sehr schwer löslich ist sie in der Kälte in allen diesen Lösungsmitteln, mit Ausnahme von Chloroform, fast unlöslich in Petroläther. Aus absolutem Alkohol kristallisiert sie besonders schön in weißen, weichen, verfilzten Nädelchen, die häufig zu kugeligen Aggregaten verwachsen sind.

Bei 140° beginnt sie zu sintern und ist bei 146° (korr.) geschmolzen.

Approximativ wurde die optische Bestimmung eines Präparates in Chloroformlösung ausgeführt. Es ließ sich nur eine ganz schwache Rechtsdrehung konstatieren.

Chloracetyl-glutamyl-diglycin.

$$
\begin{array}{l}
CH_2Cl\,.\,CO\,.\,NH\,.\,CH\,.\,CO\,.\,NH\,.\,CH_2\,.\,COOH \\
\qquad\qquad\qquad\qquad\;\;|\\
\qquad\qquad\qquad\qquad CH_2\,.\,CH_2\,.\,CO\,.\,NH\,.\,CH_2\,.\,COOH.
\end{array}
$$

3 g von dem aus Alkohol umkristallisierten Ester werden fein gepulvert, mit 3 Mol. Normalnatronlauge übergossen und bis zur Lösung mit der Hand geschüttelt. Nach zweistündiger Einwirkung säuert man mit 3 Mol. Normalschwefelsäure an und engt im Vakuum auf 15 ccm ein. Zu der warmen Lösung gibt man die 5fache Menge kalten absoluten Alkohol. Nach dem Verdampfen des Filtrates im Vakuum bleibt ein wenig gefärbtes, dickflüssiges Öl zurück, das sich in etwa 30 ccm Aceton fast vollständig löst. Man filtriert und läßt die Acetonlösung an der Luft abdunsten. Nach mehrtägigem Stehen im Exsikkator kristallisiert der sirupöse Rückstand in kugeligen Aggregaten.

Die Ausbeute an kristallisiertem Produkt betrug 2,4 g oder 93 Proz. der Theorie, berechnet auf den Ester.

Zur Reinigung wird die fein zerriebene Substanz in ganz wenig Wasser gelöst, mit Aceton versetzt und nach dem Aufkochen mit Tierkohle filtriert und abgedampft. Man versetzt von neuem mit Aceton, verdampft wieder und löst nochmals. Nach dem Impfen kristallisiert allmählich die Substanz aus der Lösung in feinen Nädelchen, die zu Kugeln verwachsen sind.

Die wäßrige Lösung reagiert deutlich sauer. Auch der Geschmack ist sauer. Mit Silbernitrat gibt die Substanz nach vorsichtigem Zusatz von Ammoniak ein körniges Silbersalz, das sich in Salpetersäure löst.

Bei 80° im Vakuum nahm die über Phosphorpentoxyd bei gewöhnlicher Temperatur getrocknete Substanz nicht an Gewicht ab.

0,1514 g Substanz gaben 0,2186 g CO_2 und 0,0647 g H_2O.

0,1472 g Substanz gaben 15,7 ccm N bei 18° und 769 mm Druck.

0,1496 g Substanz gaben 0,0644 g AgCl.

Berechnet für $C_{11}H_{16}O_7N_3Cl$ (337,64):		Gefunden:
C	39,10 Proz.	39,38 Proz.
H	4,79 -	4,78 -
N	12,45 -	12,41 -
Cl	10,50 -	10,64 -

Die Substanz ist in Wasser leicht löslich, schwer löslich in Aceton, Chloroform, Äther und Petroläther. In Alkohol ist sie auch löslich.

Sie schmilzt gegen 173° (korr.) unter Aufschäumen nach vorherigem Sintern.

Bei der optischen Bestimmung zeigte die wäßrige Lösung keine wahrnehmbare Drehung.

Glycyl-glutamyl-diglycin.

$$CH_2(NH_2).CO.NH.\underset{\displaystyle CH_2.CH_2.CO.NH.CH_2.COOH}{\underset{|}{CH}}.CO.NH.CH_2.COOH.$$

1,2 g des Chlorkörpers werden fein zerrieben und in die 5fache Menge 25proz. wäßrigen Ammoniak eingetragen, wobei fast alles in Lösung geht. Man läßt drei Tage im Thermostaten bei 25° stehen. Nach dieser Zeit ist das Chlor ziemlich vollständig abgespalten. Man dampft im Vakuum ganz zur Trockne,

nimmt den sirupösen Rückstand mit wenig Wasser auf und fällt mit absolutem Alkohol. Der Niederschlag ist chlorfrei, enthält aber noch Ammoniak. Seine Menge betrug 1,16 g. Jetzt behandelt man ihn, wie früher beschrieben[1]), mit Barythydrat im Vakuum und entfernt dieses quantitativ mit Schwefelsäure. Die Flüssigkeit wird zur Trockne verdampft (Vakuum 12 mm), mit Wasser aufgenommen und mit absolutem Alkohol gefällt. Die Ausbeute betrug 0,8 g oder 70 Proz. der Theorie.

Zur Reinigung wurde in warmem Wasser gelöst und warmer, absoluter Alkohol zunächst bis zur Trübung zugesetzt, nach dem Abkühlen bis zur vollständigen Fällung.

In absolutem Alkohol ist das Peptid fast unlöslich, in Wasser ist es löslich, und zwar wird es von kaltem Wasser nicht übermäßig leicht aufgenommen.

Mit Silbernitrat gibt es nach vorsichtigem Zusatz von Ammoniak eine Fällung. Die Biuretreaktion zeigt es schwach. Die konzentrierte wäßrige Lösung wird von einer gesättigten Ammoniumsulfatlösung nicht gefällt. In sehr verdünnter schwefelsaurer Lösung wird es von Phosphorwolframsäure nicht gefällt.

Es kristallisiert in feinen Nadeln, die vielfach zu Kugeln verwachsen sind. Das Peptid ist fast geschmacklos. Die wäßrige Lösung reagiert deutlich sauer.

Für die Analyse wurde bei 105° im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Das Peptid ist dann ganz schwach hygroskopisch.

0,1390 g Substanz gaben 0,2113 g CO_2 und 0,0707 g H_2O.

[1]) S. 20.

0,1070 g Substanz gaben 16,2 ccm N bei 16° und 758 mm Druck.

Berechnet für $C_{11}H_{18}O_7N_4$ (318,22):		Gefunden:
C	41,48 Proz.	41,46 Proz.
H	5,71 -	5,69 -
N	17,61 -	17,52 -

Das Peptid hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Es beginnt bei etwa 220° sich zu färben und zersetzt sich gegen 248° (korr.) unter starkem Schäumen und Schwärzung.

Synthese der Glycyl-α-Aminostearinsäure.

Theoretischer Teil.

Im Gegensatz zu den α-Aminoverbindungen der einfachen Fettsäuren sind die Derivate der hochmolekularen Säuren wenig untersucht. Offenbar haben sie das Interesse in geringem Maße in Anspruch genommen, da man sie bisher in der Natur nicht beobachtet hat. Trotzdem erschien es mir nicht überflüssig, die Polypeptidsynthesen auf diese Körper zu übertragen, und als Beispiel habe ich die Kombination von Glykokoll und α-Aminostearinsäure gewählt.

Zu dieser Aminosäure gelangten C. Hell und J. Sadomsky[1]) auf dem üblichen Wege über die Bromfettsäure. Sie wandten die Hell-Vollhard-Zelinskysche Methode bei der Stearinsäure an und zeigten, daß selbst bei dieser hochmolekularen Säure die Bromierung ganz glatt nach der Gleichung:

$$3\,(R\,.\,CH_2\,.\,COOH) + P + Br_{11} = 3\,(R\,.\,CH\,.\,Br\,.\,CO\,Br) + H\,PO_3 + 5\,H\,Br$$

verläuft.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 2388 (1891).

Im allgemeinen erfolgt der Eintritt des ersten Bromatoms bei der direkten Substitution, besonders unter Mitwirkung von rotem Phosphor, in α-Stellung. Für die niederen Fettsäuren gilt dies als ziemlich sicher; bei den höheren Repräsentanten dieser Reihe bedurfte es jedoch eines besonderen Beweises. Denn bei der großen Zahl der CH_2-Gruppen war es ungewiß, ob sich nicht ein anderes Glied als gerade das der Carboxylgruppe benachbarte an der Reaktion beteiligt. Um diese Frage zu entscheiden, studierten C. Hell und J. Sadomsky[1]) die Einwirkung von Cyankali auf Bromstearinsäureäthylester und erhielten das Kaliumsalz der Cyanstearinsäure, welches nach dreitägigem Kochen mit alkoholischem Alkali und Ansäuern die Hexadecylmalonaminsäure

$$CH_3 . (CH_2)_{15} . CH \begin{matrix} \cdot COOH \\ \cdot CO\,NH_2 \end{matrix}$$

liefert. Durch längeres Erwärmen mit Alkali tritt eine vollständige Zerstörung der Aminogruppe ein, und es bildet sich die Hexadecylmalonsäure

$$CH_3 . (CH_2)_{15} . CH \begin{matrix} \cdot COOH \\ \cdot COOH \end{matrix}$$

Beim Erhitzen über ihren Schmelzpunkt gibt diese Kohlensäure ab und geht dabei in die Stearinsäure über und zeigt somit das für die Malonsäuren charakteristische Verhalten. Zudem ist sie identisch mit der von Guthzeit[2]) aus Malonester, Natrium und Cetyljodid gewonnenen Cetylmalonsäure. Demnach bestehen keine Zweifel mehr über die Struktur der

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 2778 (1891).

[2]) Annalen der Chem. u. Pharm. 206, 357.

Bromstearinsäure und der aus ihr durch Erhitzen mit alkoholischem Ammoniak gebildeten Aminosäure.

Für die Darstellung des Glycylpeptides benutzte ich, wegen der geringen Löslichkeit der Aminostearinsäure in den meisten Solventien, ihre Ester. Die Veresterung mit Salzsäure und Alkoholen geht hier schwerer als bei den einfachen Aminosäuren. Ich habe Methyl- und Äthylester bereitet. Der erste ist am leichtesten zu gewinnen und eignet sich am besten zur Peptidsynthese. Beide werden von Chloracetylchlorid leicht angegriffen, und die hierbei entstehenden Ester lassen sich ohne großen Verlust durch alkoholisches Alkali in Chloracetyl-aminostearinsäure

$$Cl . CH_2 . CO . NH . CH . (C_{16} H_{33}) . COOH$$

verwandeln. Diese liefert mit alkoholischem Ammoniak die Glycyl-aminostearinsäure

$$CH_2 . (NH_2) . CO . NH . CH . (C_{16} H_{33}) . COOH,$$

welche im wesentlichen das Verhalten der gewöhnlichen Dipeptide zeigt.

Durch Erhitzen des Halogenacylaminosäureesters mit alkoholischem Ammoniak erhält man das Hexadecyldiketopiperazin

$$\begin{array}{l} CH_2 . NH . CO \\ \quad . \qquad\quad . \\ CO . NH . CH . (C_{16} H_{33}), \end{array}$$

und verdient hier dieses Verfahren den Vorzug vor den anderen Methoden zur Darstellung der Dipeptidanhydride.

Experimenteller Teil.

Aminostearinsäure-methylester-chlorhydrat.

$(HCl) . NH_2 . CH . (C_{16} H_{33}) . COOCH_3$.

Man suspendiert 8 g fein gepulverte Aminosäure in 240 ccm Methylalkohol, der über Calciumoxyd getrocknet ist, und leitet ohne Kühlung einen Strom von trockner Salzsäure ein. Hierbei geht schon der größere Teil in Lösung. Dann wird noch unter gleichzeitigem langsamen Einleiten von Salzsäure etwa zwei Stunden am Rückflußkühler gekocht. Es findet eine reichliche Ausscheidung des salzsauren Esters statt, und beim Erkalten entsteht ein dicker Kristallbrei. Er wird abfiltriert und die Mutterlauge unter stark vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Der Rückstand ist verhältnismäßig gering. Man löst ihn zusammen mit den abfiltrierten Kristallen in kochendem Essigester. Beim Abkühlen der filtrierten Flüssigkeit scheidet sich das Methylesterchlorhydrat in feinen, farblosen, verfilzten Nadeln, die meist konzentrisch verwachsen sind, ab. Kühlt man in einer Mischung von Salz und Eis, so ist die Ausscheidung nahezu vollständig. Die Kristallmasse wird ganz kalt abgesaugt, gepreßt und mit Äther gewaschen.

Die Ausbeute betrug 8,6 g oder 92 Proz. der Theorie.

Für die Analyse war nochmals aus heißem Essigester umkristallisiert und im Vakuum-Exsikkator getrocknet.

0,1978 g Substanz gaben 0,0825 g AgCl.

Berechnet für $C_{19} H_{40} O_2 NCl$ (349,86):	Gefunden:
Cl 10,13 Proz.	10,31 Proz.

Das Salz schmilzt bei 112° (korr.), nachdem kurz vorher Sinterung eingetreten ist.

Es löst sich in heißem Benzol ziemlich leicht, kristallisiert aber beim Abkühlen aus; in Aceton ist es auch in der Wärme erheblich schwerer löslich. In warmem Alkohol ist es recht leicht löslich. Das Salz löst sich in heißem Wasser ziemlich gut auf, beim Erkalten trübt sich die Lösung wieder und wird dickflüssig, schließlich gallertig. Der freie Ester wird erhalten, wenn man das Chlorhydrat in warmem Wasser löst, schnell etwas abkühlt und mit Sodalösung versetzt. Schüttelt man dann mit Äther aus, so wird der Ester von diesem aufgenommen. Er ist ein fester kristallinischer Körper, der leicht löslich ist in Chloroform, Äther, Alkohol und auch in Petroläther, aber unlöslich in Wasser.

Aminostearinsäure-äthylester-chlorhydrat.

$(HCl) . NH_2 . CH . (C_{16} H_{33}) . COOC_2H_5$.

5 g Aminostearinsäure werden in 250 ccm absolutem Alkohol suspendiert und ein rascher Strom von trockner Salzsäure bis zur Sättigung eingeleitet. Dann erwärmt man noch 6—7 Stunden am Rückflußkühler auf dem Wasserbade unter langsamem Durchleiten von Salzsäuregas. Hierbei erfolgt keine vollkommene Lösung; denn ehe die Aminosäure verschwunden ist, scheidet sich schon der salzsaure Ester aus. Schließlich verdampft man, ohne vorherige Filtration, unter stark vermindertem Druck zur Trockne und kocht den Rückstand mit heißem Essigester aus. Eine kleine Menge bleibt ungelöst. Aus dem Filtrat scheidet sich, besonders beim Abkühlen in einer Kältemischung, der salzsaure Ester in sehr kleinen, meist zu kugeligen

Aggregaten verwachsenen Nädelchen aus. Sie werden abgesaugt und mit Äther gewaschen.

Die Ausbeute betrug 5 g oder 82 Proz. der Theorie.

Zur Analyse war noch zweimal aus Essigester umkristallisiert und im Vakuumexsikkator getrocknet.

0,3946 g Substanz gaben 0,1572 g AgCl.

Berechnet für $C_{20}H_{42}O_2NCl$ (363,88):	Gefunden:
Cl 9,74 Proz.	9,85 Proz.

Die Substanz ist bei 89° (korr.) klar geschmolzen.

Sie ist leicht löslich in Äthyl-, Methylalkohol, Benzol, Chloroform, schwer löslich in Äther und Petroläther. In Essigester und Aceton ist sie in der Wärme viel löslicher als in der Kälte. Gegen Wasser zeigt sie ein ähnliches Verhalten wie das Methylesterchlorhydrat.

Der freie Ester läßt sich hier in der gleichen Weise gewinnen, wie früher beschrieben. Er ist wie der Methylester ein fester Körper und zeigt analoge Löslichkeitsverhältnisse.

Chloracetyl-aminostearinsäure-methylester.

$CH_2Cl.CO.NH.CH.(C_{16}H_{33}).COOCH_3$.

Man löst 8 g Aminostearinsäure-methylesterchlorhydrat in 160 ccm warmem Methylalkohol, kühlt rasch auf Zimmertemperatur ab und fügt nun etwa 95 Proz. der für das Chlor berechneten Menge Natriummethylat in verdünnter methylalkoholischer Lösung zu und verdampft die gesamte Flüssigkeit unter stark vermindertem Druck zur Trockne. Der Rückstand wird mit 100 ccm trocknem Chloroform durchgeschüttelt,

wobei sich der allergrößte Teil löst. Ohne zu filtrieren, kühlt man die Flüssigkeit in Eiswasser und fügt in ca. 4—5 Portionen eine Mischung von 1,7 ccm frisch destilliertem Chloracetylchlorid (fast das Doppelte der berechneten Menge) und 20 ccm trocknem Chloroform zu. Man verdampft dann die Flüssigkeit wieder unter geringem Druck zur Trockne und extrahiert den Rückstand mit warmem Äther; dabei bleibt neben Kochsalz das durch die Reaktion entstandene Aminostearinsäuremethylesterchlorhydrat zurück und kann durch Umkristallisation aus heißem Essigester leicht gereinigt werden. Der ätherische Auszug hinterläßt beim Verdampfen den Chloracetylaminostearinsäuremethylester als kristallinische Masse. Hat das Produkt noch einen sauren Geruch, so wird es sorgfältig mit Wasser gewaschen, dann im Exsikkator getrocknet und in warmem Petroläther gelöst. Wird diese Lösung etwas konzentriert, so beginnt bei gewöhnlicher Temperatur bald die Kristallisation. Man kühlt schließlich in einer Kältemischung und filtriert auf der Pumpe.

Bei Verarbeitung der Mutterlauge betrug die Ausbeute 3,84 g, das entspricht 86 Proz. der Theorie, wenn man berücksichtigt, daß die Hälfte des freien Esters als salzsaures Salz der Reaktion entzogen wird.

Für die Analyse war nochmals aus Petroläther umkristallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0,1309 g Substanz gaben 0,3099 g CO_2 und 0,1209 H_2O.

0,2372 g Substanz gaben 7,2 ccm N bei 16° und 766 mm.

0,1760 g Substanz gaben 0,0657 g AgCl.

Berechnet für $C_{21} H_{40} O_3 NCl$ (389,86):		Gefunden:
C	64,64 Proz.	64,57 Proz.
H	10,36 -	10,33 -
N	3,59 -	3,55 -
Cl	9,09 -	9,23 -

Die Substanz schmilzt bei 78° (korr.), nachdem kurz vorher Erweichung stattgefunden hat. Sie kristallisiert aus Petroläther in farblosen Nadeln, die meist zu Kugeln verwachsen sind. Sie ist unlöslich in Wasser, löst sich aber in den meisten organischen Solventien.

Chloracetyl-aminostearinsäure-äthylester.

$CH_2 Cl . CO NH . CH . (C_{16} H_{33}) . COO C_2 H_5$.

5 g Äthylesterchlorhydrat werden in etwa 120 ccm warmem absoluten Alkohol gelöst, rasch abgekühlt und mit 95 Proz. der für das Chlor berechneten Menge Natriummäthylat versetzt und im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird mit ca. 50—80 ccm Ccloroform aufgenommen, worin er sich in der Hauptsache löst. Man kühlt und kuppelt unter Umschütteln mit 0,75 ccm Chloracetylchlorid, welches in etwa 20 ccm Chloroform gelöst ist. Alsdann dampft man das Chloroform im Vakuum ab und extrahiert den Rückstand mit Äther. Chlornatrium und Esterchlorhydrat bleiben zurück, während der neue Körper in Lösung geht. Die ätherische Lösung läßt man verdunsten und wäscht die Substanz dann mit Wasser. Nach dem Trocknen über Schwefelsäure kristallisiert man in der gleichen Weise wie bei der Methylverbindung aus Petroläther um; doch erfolgt hier die Kristallisation langsam.

Die Ausbeute betrug 2,4 g (86,5 Prozent der Theorie).

Der Ester bildet sehr kleine Nadeln, die meist zu Knollen verwachsen sind. Er ist unlöslich in Wasser, aber leicht löslich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln.

Für die Analyse wurde aus Petroläther umkristallisiert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0,1617 g Substanz gaben 0,3892 CO_2 und 0,1537 H_2O.

0,2078 g Substanz gaben 6,3 ccm N bei 8° und 766 mm Druck.

0,1826 g Substanz gaben 0,0653 g Ag Cl.

Berechnet für $C_{22}H_{42}O_3NCl$ (403,88):		Gefunden:
C	65,37 Proz.	65,64 Proz.
H	10,50 -	10,63 -
N	3,47 -	3,51 -
Cl	8,78 -	8,84 -

Die Substanz ist nach vorherigem Sintern bei 68° (korr.) zu einer klaren Flüssigkeit geschmolzen.

Chloracetyl-α-aminostearinsäure.

$CH_2Cl.CO.NH.CH.(C_{16}H_{33}).COOH.$

5 g Chloracetyl-aminostearinsäure-methylester werden in 50 ccm gewöhnlichem Alkohol von 95 Proz. gelöst, bei gewöhnlicher Temperatur mit 28,7 ccm n/2 alkoholischer Natronlauge (1¼ Mol.) und soviel Wasser versetzt, daß noch kein dauernder Niederschlag entsteht. Dann läßt man 2½ Stunden bei Zimmertemperatur stehen, fügt die der Natronlauge

entsprechende Menge Salzsäure und viel Wasser hinzu. Der hierbei entstehende voluminöse Niederschlag wird ausgeäthert und der ätherische Auszug unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Um eine kleine Menge unverseiften Methylester zu entfernen, laugt man den Rückstand mit warmem Petroläther aus. Dann löst man in warmem Äther, fällt mit Petroläther und filtriert nach längerem Stehen in einer Kältemischung die ausgeschiedene Kristallmasse.

Die Ausbeute betrug 80 Proz. der Theorie.

Für die Analyse war nochmals aus Äther und Petroläther umkristallisiert und im Vakuum getrocknet.

0,1116 g Substanz gaben 0,2604 g CO_2 und 0,1005 g H_2O.

0,2023 g Substanz gaben 6,6 cbcm N bei 18° und 768 mm Druck.

0,1693 g Substanz gaben 0,0656 g Ag Cl.

Berechnet für $C_{20}H_{38}O_3NCl$ (375,84):		Gefunden:
C	63,86 Proz.	63,64 Proz.
H	10,21 -	10,08 -
N	3,73 -	3,79 -
Cl	9,43 -	9,58 -

Die Verbindung beginnt, im Kapillarrohr erhitzt, bei 103° zu sintern und ist bei 107° (korr.) völlig geschmolzen.

Sie ist unlöslich in Wasser, fast unlöslich in Petroläther, dagegen leicht löslich in Äther, Alkohol, Aceton, Eisessig und Chloroform. Sie kristallisiert in feinen, farblosen Nadeln, die vielfach büschelförmig vereinigt sind.

In der gleichen Weise läßt sich der Äthylester verseifen, nur ist es vorteilhaft, die alkalische Lösung

hier etwas länger, etwa 4 Stunden, stehen zu lassen. Die Ausbeute betrug dann auch 80 Prozent der Theorie.

Glycyl-α-aminostearinsäure.

$CH_2(NH_2) . CO . NH . CH . (C_{16} H_{33}) . COOH.$

Man erhitzt 2 g Chloracetyl-aminostearinsäure mit 20 ccm alkoholischem Ammoniak, das bei 0° gesättigt ist, im Einschlußrohr zwei Stunden auf 100°. Nach dem Erkalten sind aus der Flüssigkeit reichliche Mengen von kugeligen Aggregaten, die unter dem Mikroskop kristallinische Struktur zeigen, ausgeschieden. Ohne zu filtrieren, verdampft man die alkoholische Flüssigkeit auf dem Wasserbad zur Trockne und laugt zur Entfernung des Chlorammoniums den Rückstand mit warmem Wasser aus. Das zurückbleibende Dipeptid wird abfiltriert, mit warmem Alkohol und Äther gewaschen und bildet dann eine farblose, glänzende Masse.

Die Ausbeute betrug 85 Proz. der Theorie.

Für die Analyse wurde es in wenig Eisessig unter gelindem Erwärmen auf dem Wasserbade gelöst, die filtrierte Flüssigkeit mit Wasser gefällt und der Niederschlag nach dem Absaugen mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen. Über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet, erfuhr das Präparat bei 80° im Vakuum keinen Gewichtsverlust.

0,1097 g Substanz gaben 0,2708 g CO_2 und 0,1103 g H_2O.

0,1225 g Substanz gaben 8,3 ccm N bei 18° und 762 mm Druck.

Berechnet für $C_{20}H_{40}O_3N_2$ (356,42):		Gefunden:
C	67,34 Proz.	67,32 Proz.
H	11,33 -	11,25 -
N	7,86 -	7,81 -

Das Dipeptid kristallisiert aus der Lösung in wenig warmem Eisessig auf Zusatz von Äther und bildet kleine, kugelige Aggregate von mikroskopischen Stäbchen.

Im Kapillarrohr erhitzt, fängt es gegen 200° an sich braun zu färben und schmilzt nicht ganz konstant gegen 218° (korr.) zu einer dunklen Flüssigkeit, wobei es sehr wahrscheinlich in das später beschriebene Anhydrid übergeht.

Es ist in den gewöhnlichen organischen Solventien sehr wenig löslich, eine Ausnahme macht Eisessig. Leicht wird es auch von alkoholischer Natronlauge, besonders beim Erwärmen, aufgenommen. In heißer, sehr verdünnter Salzsäure löst sich das Dipeptid in merklicher Menge, und die Flüssigkeit schäumt ziemlich stark; in stärkerer Salzsäure ist es schwerer löslich. Die Lösung in sehr verdünnter Salzsäure trübt sich beim Erkalten und scheidet eine amorphe Masse ab. Aber beim Erhitzen tritt wieder ganz klare Lösung ein. Mit Ammoniak wird aus dieser salzsauren Lösung das Dipeptid gefällt, vorausgesetzt, daß man keinen zu großen Überschuß von Ammoniak anwendet, der wieder etwas löst. In sehr verdünnter, heißer Natronlauge löst sich das Dipeptid ziemlich leicht und vollkommen klar. Auch diese Lösung schäumt etwas. Beim Abkühlen trübt sich die Flüssigkeit. Durch stärkere Natronlauge wird das Natronsalz daraus gefällt. Ebenso fällt verdünnte Essigsäure sofort das Dipeptid als dicken, amorphen Niederschlag.

Glycyl-aminostearinsäure-anhydrid.

$CH_2 . NH . CO$

$CO . NH . CH . C_{16}H_{33}$.

1,5 g Chloracetyl-aminostearinsäure-äthylester werden mit 20 ccm alkoholischem Ammoniak, das bei 0° gesättigt ist, im Einschlußrohr 4 Stunden auf 100° erhitzt. Beim Erkalten ist eine reichliche Menge von farblosen, kugeligen Aggregaten ausgeschieden. Man verdampft die alkoholische Flüssigkeit und laugt den Rückstand mit Wasser aus. Nach der Filtration wäscht man mit Alkohol und Äther.

Die Ausbeute an dem feinen, farblosen und chlorfreien Pulver betrug 1,15 g oder 91 Proz. der Theorie.

Zur Reinigung wird in warmem Eisessig gelöst. Beim Erkalten fällt das Anhydrid rasch kristallinisch aus. Es wird mit Äther gewaschen und für die Analyse bei 100° unter 10—15 mm Druck getrocknet.

0,1304 g Substanz gaben 0,3389 g CO_2 und 0,1344 H_2O.

0,1770 g Substanz gaben 12,6 ccm N bei 17° und 758 mm Druck.

Berechnet für $C_{20}H_{38}O_2N_2$ (338,4):		Gefunden:
C	70,92 Proz.	70,88 Proz.
H	11,34 -	11,53 -
N	8,28 -	8,20 -

Das Anhydrid schmilzt bei 219° (korr.), nachdem kurz vorher Sinterung stattgefunden hat. Es löst sich leicht in heißem Eisessig und kristallisiert daraus in mikroskopischen Stäbchen, die in der Regel zu kugeligen Aggregaten verwachsen sind.

In Wasser ist es unlöslich und in den gewöhnlichen organischen Solventien recht schwer löslich. Zum Unterschied von dem Dipeptid löst es sich nicht in heißer, ganz verdünnter Natronlauge.

Der experimentelle Teil vorliegender Arbeit wurde im Chemischen Institut der Universität Berlin Anfang November 1906 begonnen und Ostern 1908 zu Ende geführt.

Herr Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Emil Fischer gab mir die Anregung zu dieser Arbeit und ließ mir bei ihrer Ausführung seine wertvolle Unterstützung im reichsten Maße zuteil werden. Es ist mir daher eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich, Walter Friedrich Kropp, evangelischer Konfession, wurde am 17. Juni 1885 in Rheydt (Reg.-Bez. Düsseldorf) als Sohn des verstorbenen Fabrikanten Ernst Gustav Kropp geboren.

Von Ostern 1895 an besuchte ich in meiner Vaterstadt die Oberrealschule, die ich nach 9 Jahren mit dem Zeugnis der Reife verließ. Um mich dann dem Studium der Chemie zu widmen, bezog ich die Universität Erlangen und, von Ostern 1905 an, die Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin.

Mein Verbandsexamen bestand ich am Chemischen Institut der Universität Berlin. Die Promotionsprüfung fand am 9. Juli 1908 statt.

Ich besuchte die Vorlesungen der Herren:

Branca, Busch, Biedermann, O. Diels, E. und O. Fischer, Gutbier, Haack, van't Hoff, Jordis, Lasson, Nernst, Pringsheim, Riehl, Stock, E. Wiedemann.

Allen diesen Herren bin ich zu stetem Dank verpflichtet.